

**SEASONING AND FOOD RAW MATERIAL CONTAINING  
TRANSGLUTAMINASE**

Patent Number: JP2086748  
Publication date: 1990-03-27  
Inventor(s): KOBATA HIROKO; others: 04  
Applicant(s):: AJINOMOTO CO INC  
Requested Patent: ☐ JP2086748  
Application Number: JP19880237000 19880921  
Priority Number(s):  
IPC Classification: A23L1/229 ; A23J3/14 ; A23J3/16 ; A23L1/317  
EC Classification:  
Equivalents: JP2629886B2

---

**Abstract**

---

**PURPOSE:** To obtain the subject seasoning effective in imparting a processed animal or fish meat with tackiness without deteriorating the palatability, taste and flavor of the processed meat by mixing transglutaminase as an active binder component with mono-sodium L-glutamate and a nucleic acid-type seasoning substance.

**CONSTITUTION:** The objective seasoning can be produced by mixing transglutaminase as a binder to mono-sodium L-glutamate and a nucleic acid-type seasoning such as sodium inosinate. A food raw material containing the transglutaminase as a binder can be produced by adding an mixing a vegetable protein such as soybean protein to the above seasoning. A strong tackiness can be imparted to a processed food such as a hamburger by the addition of the above seasoning or food raw material to the food.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

## ⑫ 公開特許公報(A)

平2-86748

⑬ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)3月27日

A 23 L 1/229  
A 23 J 3/14  
3/16A 7236-4B  
7236-4B  
7236-4B※

審査請求 未請求 請求項の数 7 (全12頁)

⑮ 発明の名称 トランスグルタミナーゼを含有する調味料及び食品素材

⑯ 特 願 昭63-237000

⑰ 出 願 昭63(1988)9月21日

⑱ 発 明 者 木 幡 浩 子 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内

⑲ 発 明 者 添 田 孝 彦 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内

⑳ 発 明 者 野 中 雅 彦 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内

㉑ 発 明 者 渡 井 口 清 一 郎 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内

㉒ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

㉓ 代 理 人 弁理士 川口 義雄 外3名

最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

トランスグルタミナーゼを含有する調味料  
及び食品素材

## 2. 特許請求の範囲

(1) 結着有効成分としてのトランスグルタミナーゼ及びL-グルタミン酸モノナトリウム、核糖系調味物質又はこれらの混合物から成る調味料。

(2) 前記トランスグルタミナーゼは、動物由来又は微生物由来のトランスグルタミナーゼであることを特徴とする請求項1に記載の調味料。

(3) 蛋白加水分解物、酵母エキス及び食塩の少なくとも1以上を、更に含有する請求項1又は2に記載の調味料。

(4) 他の粉末調味料、スパイス、粉末油脂、パン粉及び乾燥野菜の少なくとも1以上を更に含有する請求項1、2又は3に記載の調味料。

(5) 植物性蛋白を更に含有する請求項1、2、3又は4に記載の調味料。

(6) 結着有効成分としてのトランスグルタミナーゼ及び植物性蛋白を含有する食品素材。

(7) 前記植物性蛋白が大豆蛋白である請求項6に記載の食品素材。

## 3. 発明の詳細な説明

## 〔利用分野〕

本発明は、トランスグルタミナーゼ(TGase)を結着有効成分として含有する新規な調味料及び食品素材に関する。

## 〔従来技術〕

畜肉、魚肉加工品の製造には、一般に調味料が用いられているが、調味料には結着力がなく、結着剤として一般的には澱粉が添加されている。しかしながら、結着剤としての澱粉は、最終製品の食感を悪くすることがあり、適用できる食品の範囲が

限定されるという欠点があった。

澱粉より好ましい粘着剤として、卵白（卵白粉）が使用されているが、これも最終製品の食感、風味を損うことがあり、又、高価であるなどの欠点を有していた。

〔発明が解決しようとする課題〕

従来使用されている粘着剤は、以上に述べた如く、最終製品の食感、風味を損ったり、高価であるなどの欠点を有しており、最終製品の食感、風味などを損わず、強い粘着を賦与することができ、粘着剤が望まれていた。更に、このような粘着剤を、畜肉・魚肉加工品製造時に使用される調味料又は、食品素材に配合すれば、粘着を簡単に賦与することができる。従って、本発明の主題は、畜肉・魚肉加工品に粘着を簡単に賦与することができ、食感を改善できる、粘着剤を含有する調味料及び食品素材を提供することにある。

れるグルタミン残基とリジン残基間に架橋を形成し、畜肉・魚肉加工品に粘着を賦与し、食感を改善するものであれば、いずれも使用することができる。具体的には、例えば、本出願人による特開昭 58-149645に記載されたモルモット肝由来のTGase (MTGase) を挙げることができる。更に、本発明者の一が発明者として関与した発明である特願昭 62-165067には、微生物、例えば、ストレプトベルチシリウム属の菌により産生される微生物由来の新規なTGase (BTGase) が開示されている（新規BTGaseの製造法、酵素特性等については後述する）。本発明においては、このようなBTGaseをも使用できることは勿論である。

本発明の新規調味料の調味成分は、L-グルタミン酸モノナトリウム、核酸系調味物質、及びこれらの混合物である。核酸系調味物質とは、イノ

〔課題を解決するための手段〕

本発明者等は、アシル転移酵素の一つであるTGaseの、食品蛋白中に多く含有されるグルタミン残基とリジン残基間に架橋を形成する作用に着目し、研究した結果、畜肉・魚肉加工品の製造に、TGaseを含有する調味料又は食品素材<sup>（しかも肉に）</sup>を用いると、加工品に簡単に粘着を賦与することができ、かつ食感を改善できることを見出し、本発明を完成した。

即ち、本発明は、①粘着有効成分としてのTGase及び、L-グルタミン酸モノナトリウム、核酸系調味物質又はこれらの混合物からなる新規調味料ならびに②粘着有効成分としてのTGase及び植物蛋白を含有する食品素材である。

本発明において用いられるTGaseの由来は特に限定されるものではなく、食品蛋白中に含ま

れるグルタミン酸モノナトリウム、グアニル酸ナトリウムなどの、調味料として用いられているヌクレオチドを示す。

さて、TGase及び調味成分の配合割合は、TGase 1 U (unit) に対して、L-グルタミン酸モノナトリウムは  $1 \times 10^{-2} \sim 3 \times 10^4$  g、好ましくは  $5 \times 10^{-2} \sim 6 \times 10^3$  g、核酸系調味物質は  $1.0 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^3$  g、好ましくは  $5.0 \times 10^{-4} \sim 200$  g ~~垂注部~~ である。L-グルタミン酸モノナトリウムと核酸系調味物質を併用する場合には、これらの合計量がTGase  $1.0 \times 10^3$  U に対して  $1.0 \times 10^{-2} \sim 3.1 \times 10^4$  g、好ましくは  $5.0 \times 10^{-2} \sim 6.2 \times 10^3$  gであり、これらの混合割合は特に限定されない。

本発明の調味料には必致に応じて、食塩及び従来食品製剤、加工食品等に使用されている蛋白加水分解物、酵母エキスを加えることもできる。この場合、食塩の配合割合は特に限定されないが、

蛋白加水分解物及び、酵母エキスの配合割合は  $1\text{ Gase } 1 \times 10^3 \text{ U}$  に対して  $1.0 \times 10^{-3} \sim 1.0 \times 10^4 \text{ g}$ 、好ましくは  $2.0 \times 10^{-2} \sim 2.0 \times 10^3 \text{ g}$  である。

又、惣菜の調理加工を簡便にし、 $1\text{ Gase}$  の活性を常温で長期間保持するためには、乾燥粉末状態（水分含量が20%以下であるのが好ましい）の他の調味料、スパイス、粉末油脂、パン粉、乾燥野菜を単独又は2つ以上、本発明の調味料に加えることが好ましい。この場合、配合割合は特に限定されない。なお上記の他の乾燥粉末調味料としては、鮎類、粉末しょうゆ、粉末クチャップ、粉末みりん、粉末ワインなどが例示される。

畜肉、魚肉の代替、増量あるいは粘着性を補助する目的で、本発明の $1\text{ Gase}$ 含有調味料に、植物性蛋白を $1\text{ Gase } 1 \times 10^3 \text{ U}$ に、対して、 $10 \sim 1 \times 10^4 \text{ g}$ 、好ましくは $50 \sim 2 \times 10^3 \text{ g}$ 、更

$\text{Unit}$  に対し、 $10 \sim 1 \times 10^4 \text{ g}$ 、好ましくは $50 \sim 2 \times 10^3 \text{ g}$ である。植物蛋白以外の成分については、前述の調味料の説明において列挙した諸成分を添加すればよい。

さて、本発明の $1\text{ Gase}$ 含有調味料又は食品素材を用いて、畜肉、魚肉加工品を以下のようにして製造することができる。

本発明の調味料又は、食品素材を、畜肉又は魚肉、必要量の水、及び必要に応じて用いられる他の調味材料又は食品素材に加え、これらを十分に混合する。混合方法は、ホバートミキサー、サイレントカッター、ニーダー、手など何れの方法でもよい。なお、本発明に係る大豆蛋白を含有する食品素材又は大豆蛋白を含む調味料を使用する場合には必要量の水を加えて、 $0 \sim 30$ 分間放置し、吸水させた後、畜肉又は魚肉を加えて混合するのが好ましい。次いでこれを成形し必要に応じて $5$

に含有させてもよい。植物性蛋白としては、油糧種子の脱脂物（脱脂大豆）及び分離大豆蛋白、濃縮大豆蛋白、大豆粉などを挙げることができる。

更に、添加物、賦形剤として、脱脂粉乳、澱粉、多糖、乳化剤などを $1\text{ Gase}$ の粘着作用を用いない範囲で本発明の調味料に添加してもよい。

本発明の調味料は、粉末混合物、打錠、顆粒、カプセル、ゼリー、液状などの形態をとることができるが、これらの形態に限定されるものではなく、又、従来公知の方法により前記形態とすることができる。

次に、 $1\text{ Gase}$ を含有する新規食品素材について説明する。 $1\text{ Gase}$ 以外の構成成分として植物蛋白、好ましくは、大豆蛋白を用いればよい。大豆蛋白としては、脱脂大豆、濃縮大豆蛋白、分離大豆蛋白、大豆粉などを用いればよい。尚、植物蛋白の添加割合は $1\text{ Gase } 1.0 \times 10^3$

$\sim 40^\circ\text{C}$ で $0 \sim 24$ 時間インキュベーションして生地を粘る。このようにして得られた生地はそのまま加熱調理して最終製品とすることができる。又、得られた生地を蒸し、ロースト、グリル、ボイルなどの方法により加熱して $1\text{ Gase}$ を失活させ、冷凍あるいはチルド保存用の加工食品とすることもできる。 $1\text{ Gase}$ 失活のためには、例えば、 $80^\circ\text{C}$ で50分、 $85^\circ\text{C}$ で30分、又は $90^\circ\text{C}$ で10分程度加熱することが必要である。このようにして製造された冷凍保存用の加工食品は、通常行われているように解凍後加熱調理して最終製品とすることができる。チルド保存用の加工食品はそのまま、あるいは加熱処理後、最終製品とすることができる。

本発明の $1\text{ Gase}$ 含有調味料又は食品素材を用いれば、上述のような簡便な方法により粘着が賦与され食感が改善されたハンバーグ、ミートボール、ミートパテ、シューマイ、コロッケ、中華

まんじゅう、かまぼこ、揚げかまぼこ、竹輪、魚肉ハム・ソーセージ、畜肉ハム・ソーセージなどの畜肉・魚肉加工品を得ることができる。

なお本発明のTGase含有調味料又は食品素材は、TGaseの架橋化機能を活用し、惣菜・加工食品製造時に短時間で結着効果を発現させるために、TGaseの濃度は蛋白（TGaseを含有する調味料又は食品素材中の植物蛋白は含まない。）1gに対して0.1～100U、好ましくは0.5～20Uになるように使用する。蛋白1gに対して0.1U未満の場合には、TGaseを添加しない場合と区別がなく、100Uを超える場合には、架橋反応が進みすぎて蛋白が凝集し結着効果が得られないので好ましくない。又、モルモット肝由来のTGase（MTGase）は、カルシウム（ $\text{Ca}^{2+}$ ）依存性であるため、MTGase含有の本発明の調味料を用いて、畜肉・魚肉加

工品を製造するには、 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{CaCO}_3$ 、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ などを $\text{M}^{\text{TG}}\text{Tase 1U}$ に対して1～100mM、好ましくは1～20mM加えることが必要である。

（本発明で用いる新規トランスグルタミナーゼBTGase）

(1) トランスグルタミナーゼとその由来

トランスグルタミナーゼ（以下、TGaseと略称することがある。）は、ペプチド鎖内にあるグルタミン残基のγ-カルボキシアミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。このTGaseは、アシル受容体としてタンパク質中のリジン残基のε-アミノ基が作用すると、分子内及び分子間にε-(γ-Glu)-Lys架橋結合が形成される。また水がアシル受容体として機能するときは、グルタミン残基が脱アミド化されグルタミン酸残基になる反応を進行させる酵素である。

本発明で使用する新規トランスグルタミナーゼ（BTGase）は、微生物、例えば、ストレプトベルチシリウム属の菌により産生されるものである。

① BTGaseの製造

BTGaseを産生する微生物は、例えば、ストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウム（*Streptovercillium griseocarneum*）IFO 12776、ストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム（*Streptovercillium cinnamoneum* sub sp. *cinnamoneum*）IFO 12852、ストレプトベルチシリウム・モバラエンス（*Streptovercillium mobaraense*）IFO 13819等があげられる。

これら微生物を培養し、トランスグルタミナーゼを取得するための培養法及び精製法等は次の通りである。

培養形態としては、液体培養、固体培養いずれも可能であるが、工業的には深部通気攪拌培養を行うのが有利である。又、使用する培養源としては、一般に微生物培養に用いられる炭素源、窒素源、無機塩及びその他の微量栄養源の他、ストレプトベルチシリウム属に属する微生物の利用出来る栄養源であれば全て使用出来る。培地の炭素源としては、ブドウ糖、ショ糖、ラスターゲン、グリセリン、デキストリン、澱粉等の他、脂肪酸、油脂、有機酸などが単独で又は組合せて用いられる。窒素源としては、無機窒素源、有機窒素源のいずれも使用可能であり、無機窒素源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、尿素、硝酸ソーダ、塩化アンモニウム等が挙げられる。又、有機窒素源としては大豆、米、トウモロコシ、小麦などの粉、糠、脱脂粕をはじめコーンステイプリカー、ペプトン、肉エキス、カゼイン、アミ

ノ酸、酵母エキス等が挙げられる。無機塩及び微量栄養素としては、リン酸、マグネシウム、カリウム、鉄、カルシウム、亜鉛等の塩類の他ビタミン、非イオン界面活性剤、消泡剤等の菌の生育やBTGaseの産生を促進するものであれば必要に応じて使用出来る。

培養は好氣的条件で、培養温度は菌が発育しBTGaseが産生する範囲であれば良く、好ましくは25~35℃である。培養時間は、条件により異なるが、BTGaseが最も産生される時間まで培養すれば良く、通常2~4日程度である。

BTGaseは液体培養では培養液中に溶解されており、培養終了後培養液より固形分を除いた培養ろ液より採取される。

培養ろ液よりBTGaseを精製するには、通常酵素精製に用いられるあらゆる方法が使用出来る。

在下で鉄錯体を形成させ525nmの吸収を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め活性を算出する。

BTGase活性は、特に記載しないかぎり以下に記載する方法により測定した。

#### (活性測定法)

試薬A 0.2Mトリス塩酸緩衝液 (pH 6.0)  
0.1Mヒドロキシルアミン  
0.01 M還元型グルタチオン  
0.03 Mベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグリシン

試薬B 3N-塩酸

12%-トリクロロ酢酸

5%  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.1N-HClに溶解)

上記溶液の1:1:1の混合液を試薬Bとする。

例えば、エタノール、アセトン、イソプロピルアルコール等の有機溶媒による処理、膜安、食塩等により型析、透析、限外ろ過法、イオン交換クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、ゲルろ過、吸着剤、等電点分離等の方法が使用出来る。又、これらの方法を適当に組合せる事によりBTGaseの精製度が上がる場合は適宜組合せて行う事が出来る。これらの方法によって得られる酵素は、安定化剤として各種の塩類、劇剤、蛋白質、脂質、界面活性剤等を加え或いは加えることなく、限外ろ過濃縮、逆浸透濃縮、減圧乾燥、凍結乾燥、噴霧乾燥の方法により液状又は固形のBTGaseを得ることが出来る。

BTGaseの活性測定はベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグリシンとヒドロキシルアミンを基質として $\text{Ca}^{2+}$ 非存在下で反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロロ酢酸存

酵素液の0.05mlに試薬A 0.5mlを加えて混合し37℃で10分間反応後、試薬Bを加えて反応停止とFe錯体の形成を行った後525nmの吸光度を測定する。対照としてあらかじめ熱失活させた酵素液を用いて同様に反応させたものの吸光度を測定し、酵素液との吸光度差を求める。別に酵素液のかわりにL-グルタミン酸γ-モノヒドロキサム酸を用いて検量線を作成し、前記吸光度差より生成されたヒドロキサム酸の量を求め、1分間に1μモルのヒドロキサム酸を生成する酵素活性を1単位とした。

#### BTGaseの酵素特性

上のようにして得られる精製BTGase、即ちストレプトペプチリウム・モバランスIFO 13819のトランスグルタミナーゼ (BTG-1と命名)、ストレプトペルチリウム・グリセオカルネウムIFO 12776のトランスグルタミナーゼ

(BTG-2と命名)、ストレプトベルチシウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム IFO 12852のトランスグルタミナーゼ

(BTG-3と命名)についての酵素化学的性質は次の通り。

a) 至適 pH :

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグリシンとヒドロキシルアミンを使用した場合、37℃、10分反応で、BTG-1の至適 pH は 6~7 にあり、BTG-2の至適 pH は 6~7 付近にあり、BTG-3の至適 pH は 6~7 付近にある。

b) 至適温度 :

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグリシンとヒドロキシルアミンを使用した場合、pH 6、10分反応で、BTG-1の至適温度は55℃付近であり、BTG-2の至適温度

は45℃付近であり、BTG-3の至適温度は45℃付近にある。

c) pH 安定性 :

37℃、10分間処理で、BTG-1は pH 5~9 で安定であり、BTG-2は pH 5~9 で安定であり、BTG-3は pH 6~9 で安定である。

d) 温度安定性 :

pH 7 で10分間処理では、BTG-1は40℃では88%活性が残存し、50℃では74%活性が残存し、BTG-2は40℃では86%活性が残存し、50℃では56%活性が残存し、BTG-3は40℃で80%活性が残存し、50℃では53%活性が残存する。

e) 基質特異性 :

各BTGaseを用い、各種合成基質とヒドロキシルアミンとの反応を調べた。いずれのBTGaseも合成基質がベンジルオキシカルボニルアスパラギニルグリシン、ベンジルオキシカル

ボニルグルタミン、グリシルグルタミニルグリシンの場合反応しない。しかし合成基質がベンジルオキシカルボニルグルタミニルグリシンの場合の反応性は最も高い。この時の各種合成基質濃度は 5 mMとした。結果は表-1に示される。

なお、表-1中のCBZはベンジルオキシカルボニル基の略であり、Glnはグルタミン基の略であり、Glyはグリシル基の略であり、Aspはアスパラギン基の略である。

表-1

基 質	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
CBZ-Gln-Gly	100	100	100
CBZ-Gln-Gly- $\alpha$ Ft	63	44	42
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60
CBZ-Gln	0	0	0
CBZ-Asp-Gly	0	0	0
Gly-Gln-Gly	0	0	0

f) 金属イオンの影響 :

活性測定系に 1 mM濃度になるように各種金属イオンを加えて影響を調べた(結果は表-2に示される)。いずれのBTGaseも $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ により活性が阻害される。

表-2

金属イオン	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
None	100	100	100
$\text{CaCl}_2$	101	102	102
$\text{BaCl}_2$	101	99	105
$\text{CoCl}_2$	103	103	103
$\text{CuCl}_2$	79	82	86
$\text{FeCl}_3$	96	104	106
KCl	96	99	105
$\text{MgCl}_2$	102	104	103
$\text{MnCl}_2$	98	97	97
NaCl	99	102	101
$\text{NiCl}_2$	102	100	101
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	97	97	100
$\text{SrCl}_2$	100	101	100
$\text{ZnCl}_2$	15	24	24

## g) 阻害剤の影響:

各阻害剤を 1 mM になるように加え、25℃、30 分放置後、活性を測定した(結果は表-3に示される)。いずれの BTGase もバラクロロマーキュリー安息香酸(PCMBと略する)、N-エチルマレイミド(NEMと略する)、モノヨード酢酸により活性が阻害される。

表-3

阻 害 剤	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
None	100	100	100
EDTA	102	98	99
PCMB	54	61	63
NEM	5	5	3
モノヨード酢酸	64	50	67
PMSF	104	95	101

表-3中PMSFはフェニルメチルスルホニルフルオリドの略である。

ポリペプトン 2.0%、ラスターゲン 2.0%、リン酸二カリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%、酵母エキス 0.2%、消泡剤としてアデカノール(商品名、旭電化社製品) 0.05%からなる培地 20 ml (pH 7) に加え 30℃ で 3 日間培養後ろ過し、培養液 18.5 ml 得た。このものの活性は、0.35u/ml である。

培養液を塩酸で pH 6.5 に調整し、予め 0.05M リン酸緩衝液(pH 6.5)で平衡化しておいた CG-50(商品名、オルガノ社製品)のカラムに通した。この操作でトランスグルタミナーゼは吸着された。さらに同緩衝液で不純蛋白質を洗い流した後、さらに 0.05~0.5 M の同緩衝液の濃度勾配をつくり、通液して溶出液を分画回収し、比活性の高い分画を集めた。電導度を 10ms 以下になるように希釈後ブルーセファロースのカラムに通した。この操作でトランスグルタミナーゼは吸着された。更に

## h) 等電点:

アンホライン等電点電気泳動により求めたところ、BTG-1の等電点 pI は 9 付近であり、BTG-2の等電点 pI は 9.7 付近であり、BTG-3の等電点 pI は 9.8 付近である。

## i) 分子価:

SDS ディスク電気泳動法より求めたところ、BTG-1の分子価は約 38,000 であり、BTG-2の分子価は約 41,000 であり、BTG-3の分子価は約 41,000 である。

## a) BTGase の製造例

## a) BTG-1 の製造

ストレプトペルチシリウム・モバラエンス IF O 13819 を培地組成ポリペプトン 0.2%、グリコース 0.5%、リン酸二カリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1% からなる培地(pH 7) 200 ml に接種し、30℃、48 時間培養し、得られた稀培養液を

0.05M リン酸緩衝液(pH 7) で不純蛋白質を洗い流した後、0~1 M の食塩濃度勾配をつくり通液して溶出液を回収し比活性の高い画分を集めた。UF 6000 膜を使い濃縮し、0.5M の食塩を含む 0.05 M リン酸緩衝液(pH 7) で緩衝液を用いて平衡化させた。

得られた濃縮液を同緩衝液で予め平衡化しておいたセファデックス G-75(ファルマシアファインケミカル社製)を含むカラムに通し、同緩衝液を流して溶出液を分画した。この結果活性画分は単一のピークとして溶出された。このものの比活性は、培養ろ液に対し 625 倍であり、回収率は 47 % であった。

## b) BTG-2 の製造

BTG-1 の場合と同様にして、ストレプトペルチシリウム・グリセオカルネウム IF O 12776 を 30℃ で 3 日間培養後ろ過し、培養液 19 ml を得た。



このものの活性は0.28U/滅であった。

B T G - 1 の場合と同様な方法で酵素を精製して、S D S ディスク電気泳動で単一の酵素をえた。

#### c) B T G - 3 の製造

B T G - 1 の場合と同様にして、ストレプトバールチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム I F O 12852 を 30℃ で 3 日培養後ろ過し、培養液 18.5 ml を得た。このものの酵素活性は 0.5 U / 滅であった。

B T G - 1 の場合と同様な方法で酵素を精製して、S D S ディスク電気泳動で単一の酵素を得た。

以下に本発明の実施例について述べる。

実施例 1 B T G a s e - 2 1 U / g ・ 蛋白を含むミートパテ用プレミックス

B T G a s e - 2 400 U、L - グルタミン酸モノナトリウム 5.0 g 及び食塩 10 g からなる調味料を牛挽肉 2 kg (尚、牛挽肉の蛋白含量は 20%) g、

即ち、得られた製品を 10 名の官能検査員が、試食し、下記の評価シートを用いて、評点を記入した。評価は、各製品ごとに独立に行い、それぞれ、結着剤を含まないプレミックスを用いて得た製品をコントロールとした。10 名の評点の平均値を評価結果として表に示した。

以下、実施例 1 ~ 3 は同様にして評価した。第

官能評価シート

評価項目	非常に 柔らかい	かなり や	やや や	どちら えう ないも	やや や	かなり や	非常に 硬い	
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
1. 硬さ	柔らかい							硬い
2. 弾力の強さ	弱い							強い
3. ジューシー感の多さ	少ない							多い
4. 粘りの強さ	弱い							強い
5. 飲み込みやすさ	むずかしい							やさしい
6. 風味の好ましさ	好ましくない							好ましい
7. 外観の好ましさ	好ましくない							好ましい
8. 総合的食感の 好ましさ	好ましくない							好ましい

(コントロールの評点を 0 とした)

水 150 g に加え、ホバートミキサーで 4 分間混合した。これを核柱状に成型し、オーブンで 140℃ で 90 分加熱し、蛋白 1 g 当たり 1 U の T G a s e を含むミートパテを得た。

このミートパテは、適当の硬さと弾力を有し、ボソツキ感がなく、結着剤として T G a s e の代りに生卵白 86 g を加えて作ったミートパテに比べ、若しく食感が好ましいものであった。以下官能評価結果を示した。

官能評価項目	試作品	生卵白使用品
硬さ	1.0	0.5
弾力の強さ	1.2	0.3
ジューシー感の多さ	1.0	-1.0
粘りの強さ	0.	-0.6
飲み込みやすさ	0.3	0.2
風味の好ましさ	0.5	0.
外観の好ましさ	0.5	0.4
総合的食感の好ましさ	1.3	-0.2

なお、各官能評価の数値は以下のようにして得た。

実施例 2 B T G a s e - 1 5 U / g ・ 蛋白を含むハンバーグ用プレミックス

B T G a s e - 1 216 U、L - グルタミン酸モノナトリウム 1.6 g、パン粉 32 g、乾燥玉ねぎ 12 g、脱脂粉乳 8 g、食塩 2.4 g、砂糖 2.4 g、こしょう 0.4 g 及びナツメグ 0.4 g から成る調味料と合挽肉 (牛 : 豚) (なお、合挽肉の蛋白含量は 20%) 240 g に添加した。次に水 96 滅も添加し、粘りが生ずるまでよく混合した。これをだ円状に成形し、B T G a s e - 1 5 U / g ・ 蛋白を含むハンバーグ生地を得た。これをフライパンにて約 5 分加熱調理した。このハンバーグは、適度な硬さ、弾力とジューシー感を有し、結着剤として T G a s e の代りに卵白粉 4.0 g を使用したハンバーグに比べ、若しく食感が好ましいものであった。以下官能評価結果を示した。

官能評価項目	試作品	卵白粉使用品
硬さ	1.0	1.2
弾力の強さ	0.8	0.4
ジューシー感の多さ	1.0	-0.2
粘りの強さ	-0.2	-0.5
飲み込みやすさ	0.3	0.5
風味の好ましさ	0.2	0.
外観の好ましさ	0.3	0.2
総合的食感の好ましさ	1.7	0.8

また本発明のTGase含有調味料を用いて同様にポテトコロッケ、ミートボール、シューマイ、中華まんじゅうを試作したが、いずれも上記ハンバーグと同様の食感改良効果が得られた。

実施例3 BTGase-1 20U/g・蛋白を含むハンバーグ用プレミックス

BTGase-1 8640U、L-グルタミン酸モノナトリウム16g、パン粉 320g、乾燥玉ねぎ 120g、脱脂粉乳80g、食塩16g、砂糖24g、こ

しいものであった。

以下官能評価結果を示した。

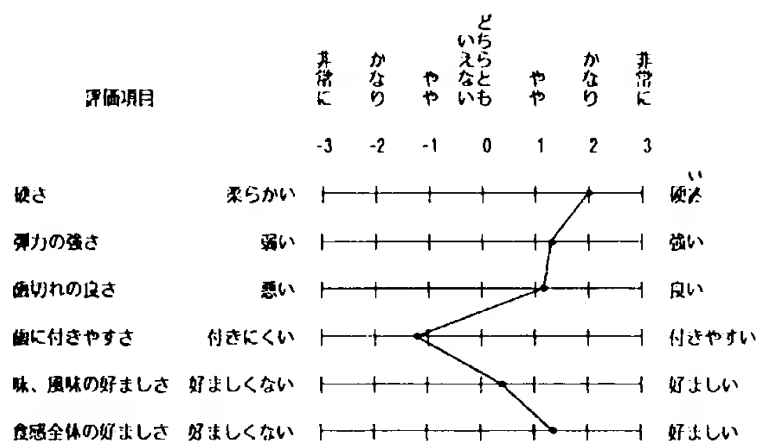
官能評価項目	試作品	卵白粉使用品
硬さ	0.	-1.5
弾力の強さ	0.	-1.3
ジューシー感の多さ	1.8	1.0
粘りの強さ	0.9	2.3
飲み込みやすさ	1.2	0.7
風味の好ましさ	0.	-1.1
外観の好ましさ	0.8	0.
総合的食感の好ましさ	0.5	-1.0

実施例4 BTGase-1 5U/g・蛋白を含む蒲鉾用調味料プレミックス

BTGase-1 5U/g・蛋白を含む蒲鉾用プレミックス46.4g (BTGase-1 750U、L-グルタミン酸モノナトリウム13g、核酸系調味料 5g) を馬鈴薯澱粉60gとともに1級すり身

しょう 4g、ナツメグ 4g、ケチャップフレーバー 4g、ワインフレーバー 4g、ビーフエキス粉 20g 及び粉末油脂 180g から成る調味料と、粗粒状大豆蛋白1200g、水1700ccを混合し、5分間放置した。これに合挽肉(牛:豚)1200g(合挽肉の蛋白含量20%)を加え、ホバートミキリーで2分間混合した。次いで、成型機にて一個75gのBTGase-1 20U/g・蛋白を含む丸状ハンバーグ生地を成型した。これを98℃、10分間加熱した後、放冷した。さらに40℃にて凍結し、冷凍ハンバーグを得た。この冷凍ハンバーグをフライパンにて再加熱したものは、適度の硬さと弾力、粘りを有し、ジューシー感に富んでいた。また、大豆臭も少なく、大豆蛋白を用いないハンバーグと同様の食感を得た。又、粘着剤としてTGaseの代りに卵白粉40gを使用したハンバーグに比べ、若しく食感が好ま

500g(蛋白含量15%)、2級すり身 500g(蛋白含量15%)、氷水 400gに加え、らいかい機を用いて8分間らいかい操作を行い、蒲鉾生地を作製した。次いで、5℃で一晩保持し、すわり工程を行った後、85℃で30分間加熱し、製品を得た。この蒲鉾は、硬さ、弾力に富み、上記プレミックスのうちTGaseを含まない調味料を用いて同様に作製したものに比べ、若しく品質がまさったものであった。以下に、官能評価結果(官能検査員10名)、レオメーター(不動工業㈱)による物性測定結果を示した。



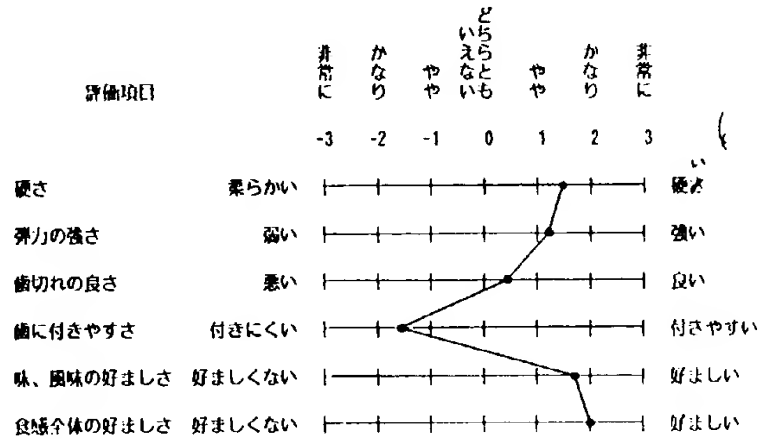
(BTGaseを含まないプレミックスを用いて作成したものの評点を0とした。)

	破断強度 (g/cm <sup>2</sup> )	ひずみ (%)
TGase無添加	723±32	52.2±2.5
TGase添加	1230±32	61.3±2.0

実施例5 BTGase-3 2.0U/g・蛋白を含む揚げかま用食品素材プレミックス

BTGase-3 2.0U/g・蛋白を含む揚げかま用食品素材プレミックス 224g (BTGase-3 450U、食塩50g、蛋白加水分解物含有調味料34g、粉末みりん30g、粉末状植物性蛋白110g)を馬鈴薯澱粉 200gとともに2級すり身1500g (蛋白含量15%)、水 390gに加えて、らいかい機を用いて20分間らいかい操作を行い、揚げかま生地を作製した。これを、成型機にて、短冊状 (50×70×12mm) に成型した。次いで、5℃で一晩保持し、すわり工程を行った後、植物油中で140℃で4.5分揚げ、冷却したものを製品とした。

この揚げかまは、硬さ、弾力に富み、歯切れが良く、上記プレミックスのうちTGaseを含まない調味料を用いて同様に作製したものに比べ、著しく品質が良かったものであった。以下に、官能評価結果 (官能検査員10名)、レオメーター (不効工業機) による物性測定結果を示した。



(BTGaseを含まないプレミックスを用いて作成したものの得点を0とした。)

	破断強度 (g/cm <sup>2</sup> )	ひずみ (%)
TGase無添加	424±28	29.1±2.1
TGase添加	576±29	37.3±1.9

#### [ 発明の効果 ]

本発明の調味料又は食品素材に含有されるTGaseは、食感を損うことなく畜肉・魚肉加工品に粘着を賦与することができる。

このようなTGaseを畜肉・魚肉加工品製造時に使用される調味料<sup>(又ハ)</sup>食品素材に配合して得られる本発明のTGase含有調味料又は食品素材を用いるとハンバーグ、ミートボール、ミートパテ、シューマイ、コロッケ、かまぼこなどの加工品に粘着を簡単に賦与することができ、食感を改善することができる。

出願人 (公) 味の素株式会社  
 代理人 弁理士 川口 義雄  
 代理人 弁理士 中村 至  
 代理人 弁理士 船山 武  
 代理人 弁理士 霜 越 正 夫

第1頁の続き

⑤Int. Cl.<sup>3</sup>

A 23 L 1/317

識別記号

庁内整理番号

7803-4B

②発明者 本 木

正 雄

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内